eppendorf

BIO NEWS

Nr. 35 – 2011

Silence | Speed | Simplicity®: Centrifuge 5424 R

- Neues Boxensystem für epT.I.P.S.® Motion
- 384 weiße Wells – für Ihre real-time PCR
- Eppendorf ehrt junge Wissenschaftler

Beeinflussung photometrischer Analysen durch „Leachables“ · Multiplex-PCR zur Pathogen-Detektion in Vollblut-Proben · Automatisierte Isolierung pflanzlicher DNA · etc.

Liebe Leserin, lieber Leser!

Qualität, Zuverlässigkeit, Erfahrung, Innovation – dies sind Begriffe, die Kunden weltweit mit Eppendorf verbinden. Ob es um eine neue Technologie, eine Serviceleistung oder die Weiterentwicklung eines bestehenden Produktes geht – jedes Detail wird mit Blick auf die Erfordernisse unserer Anwender bedacht. Und das in jeder Hinsicht mit gutem Erfolg, wie der Eppendorf Geschäftsbericht 2010 anschaulich darstellt (S. 13).

Auch die Erfolgsgeschichte der Eppendorf Mikrozentrifugen geht weiter. Gerade wurde unsere Centrifuge 5424 R mit dem „red dot design award 2011" ausgezeichnet (S. 4–5).

Zuwachs gibt es bei unseren Verbrauchsmaterialien: neue twin.tec Platten mit 384 Wells für die real-time PCR sowie epT.I.P.S. Motion mit einem neuen ökologischen Boxensystem (S. 8–9).

Eppendorf fördert junge Wissenschaftler! Auf Seite 12 stellen wir Ihnen die aktuellen Gewinner der Eppendorf Wissenschaftspreise vor.

Neben weiteren Informationen und Produktlösungen für unterschiedlichste Aufgabenstellungen finden Sie, wie gewohnt, im Innenteil detaillierte Application Notes. In unserem Gewinnspiel können Sie dieses Mal u. a. ein Set mit 3 Pipetten gewinnen.

Wir wünschen angenehme Lektüre!

Ihr BioNews Redaktionsteam

klimaneutral
natureOffice.com | DE-299-920637
gedruckt

IMPRESSUM

Redaktion:
Berrit Hoff (Projektleitung), Axel Jahns, Jochen Müller-Ibeler, Natascha Weiß

Anschrift:
Eppendorf AG,
Barkhausenweg 1, 22339 Hamburg
Telefon: (040) 53801-636
Fax: (040) 53801-840
E-Mail: bionews@eppendorf.de
Internet: www.eppendorf.com

Beiträge von Lesern sind willkommen. Für unverlangt eingesandte Manuskripte wird jedoch keine Verantwortung übernommen.

Irrtum und technische Änderungen vorbehalten.

Ihre Ansprechpartner:

Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH
Peter-Henlein-Str. 2
50389 Wesseling-Berzdorf
Tel. 01803 - 255911
(0,09 €/min aus dem Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min)
E-Mail: vertrieb@eppendorf.de

Vertrieb Schweiz:
Vaudaux-Eppendorf AG
Im Kirschgarten 30,
4124 Schönenbuch/Basel, Schweiz
Tel. (061) 4821414
E-Mail: vaudaux@vaudaux.ch

Vertrieb Österreich:
Eppendorf Austria GmbH
Ignaz-Köck-Straße 10,
1210 Wien, Österreich
Tel. (01) 8901364 - 0
E-Mail: office@eppendorf.at

Hinweis:
Die Einführung von Produkten kann in verschiedenen Märkten zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgen. Wir beraten Sie gern.

Copyright:
Alle Rechte vorbehalten, einschließlich der Grafiken und Bilder
© Copyright by Eppendorf AG, Juli 2011.

Im Blickpunkt

Silence | Speed | Simplicity®: Centrifuge 5424 R 4

Innovation

384 weiße Wells – für Ihre real-time PCR 8

Neues Boxensystem für epT.I.P.S.® Motion 9

Laborpraxis

Sicheres und effizientes Zentrifugieren 6

Referenzklasse seit 1994 10

News / Tipps

Beeinflussung von DNA-Messungen durch Kunststoffverbrauchsartikel . . . 8

ep*Motion*® Performance Pläne 9

Nano ist überall 10

Lernen mit Eppendorf Produkten 11

Eppendorf ehrt junge Wissenschaftler 12

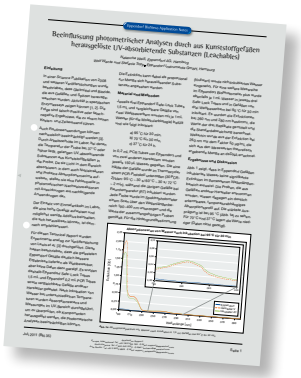
Installations- und Betriebsqualifizierung 13

Service

Gewinnspiel 14

Antwortfax / Literaturanforderung 15

Eppendorf BioNews Application Notes



Natascha Weiß, Wolf Wente, Stefanie Topp:
Beeinflussung photometrischer Analysen durch aus Kunststoffgefäßen herausgelöste UV-absorbierende Substanzen (Leachables) 1-2

Kristin Tessmar-Raible, Katharina Schipany, Sabine Przemeck:
Isolierung von fluoreszenzmarkierten sensorisch-neurosekretorischen Zellen aus dem Vorderhirn transgener *Medaka*-Embryonen mit Hilfe von Eppendorf PatchMan™ NP 2, CellTram® vario und Rowiak CellSurgeon . . . 3-4

Kristin Wessel, Roland Schmitz:
Schnelle und zuverlässige Multiplex-PCR auf dem Mastercycler® pro zur Pathogen-Detektion in Vollblut-Proben mit Hilfe des VYOO®-Kits . . 5-6

Alison Hobday Botwright, Sheila Doyle, Eric Cairns, Warren Higgins:
Automatisierte Isolierung pflanzlicher DNA mit Hilfe des Nucleon® Plant DNA Kits auf der ep*Motion*® 5075 TMX 7-8

PETER SCHREINER, EPPENDORF AG

Silence | Speed | Simplicity®: Centrifuge 5424 R

Der neue Eppendorf Mikrozentrifugen-Standard – die Centrifuge 5424 R – ist so leise, so schnell und so einfach zu bedienen wie noch nie. Unserem Motto Silence I Speed I Simplicity folgend haben wir die neue Generation von Mikrozentrifugen unter höchsten Anforderungen an Bedienkomfort und Sicherheit entwickelt. Und es hat sich gelohnt: Die 2010 eingeführte Centrifuge 5424 R wurde jetzt mit dem „red dot design award 2011" ausgezeichnet. Denn die kompakte 24-Platz Mikrozentrifuge – als Nachfolger der legendären Centrifuge 5415 R – bietet noch mehr Komfort für das Labor.

Die Centrifuge 5424 R wurde nach ausführlichen Ergonomie-Studien entwickelt, um die aktuellsten Anwenderbedürfnisse im Labor zu erfüllen. Routinearbeiten lassen sich jetzt noch schneller und einfacher gestalten. Im Gegensatz zum Vorgängermodell kann allein durch die „FastTemp Funktion" zum Vorkühlen der Zentrifuge eine Zeitersparnis von 45 % erzielt werden.

Neueste Generation gekühlter Mikrozentrifugen

Die vielseitige kompakte Mikrozentrifuge 5424 R ist für ein perfektes Zusammenspiel im Laboralltag konzipiert worden, um so eine zuverlässige und sichere Performance nach höchstem Standard in der Molekularbiologie, Biochemie oder Biotechnologie zu gewährleisten.

Mit ihrer kleinen Stellfläche und niedrigen Zugriffshöhe eignet sich die Centrifuge 5424 R für jedes Labor. Sie ist standardmäßig mit einem aerosoldichten 24-Platz-Rotor für 1,5/2,0 mL Gefäße ausgestattet und bietet drei weitere Rotoroptionen.

Ihre patentierte Kompressortechnologie reduziert Vibrationen und schützt so Ihre Proben. Hinzu kommt die verlässliche Temperaturkonstanz. Auch bei maximaler Geschwindigkeit von bis zu 21.130 x *g* bzw. 15.000 1/min wird die voreingestellte Temperatur von 4 °C konstant beibehalten.

Ausgezeichnet!

Die einzigartige Ergonomie und das Design der 5424 R wurden jetzt honoriert. Unter strengen Beurteilungskriterien, wie beispielsweise Innovationsgrad, Funktionalität, Langlebigkeit oder ökologische Anforderungen, setzte sich die Centrifuge 5424 R gekonnt durch und wurde jetzt mit dem red dot design award 2011 ausgezeichnet. Der seit 1955 jährlich ausgeschriebene Award prämiert weltweit Gestaltungsleistungen unterschiedlichster Industrieprodukte.

reddot design award
winner 2011

Silence I Speed I Simplicity®

Die Centrifuge 5424 R überzeugt jedoch nicht nur durch ihre hervorragende Ergonomie. Sie repräsentiert auch unser Motto Silence I Speed I Simplicity in idealer Weise. Sie ist noch leiser, noch schneller und noch einfacher zu bedienen als das Vorgängermodell.

Silence! Leise – für ein angenehmes Arbeitsumfeld

Alle mechanischen Komponenten wurden sorgfältig ausgewählt und optimal aufeinander abgestimmt. Störende Betriebsgeräusche konnten so deutlich reduziert werden. Das Ergebnis: Auch im Betrieb ohne Rotordeckel ist die Centrifuge 5424 R erstaunlich leise.

Das neue OptiBowl-Konzept des Rotorkessels reduziert die Geräuschkulisse deutlich und führt zu einer angenehmen Arbeitsatmosphäre.

Centrifuge 5424 R mit Folientastatur

Speed! Schneller und flexibler in der Anwendung

Die leistungsstarke Centrifuge 5424 R bietet eine hohe Zentrifugationsgeschwindigkeit bis zu 21.130 x *g* (15.000 1/min) – und dies ohne Probleme im Temperaturbereich von –10 °C bis +40 °C. Durch die FastTemp Funktion ist ein schnelles Vorkühlen von beispielsweise 21 °C auf 4 °C in nur 8 Minuten möglich. Darüber hinaus bietet eine sichere Soft-Bremse Schutz beim Zentrifugieren empfindlicher Proben.

Simplicity! Sicher durch intuitive Bedienung

Intuitive Bedienung heißt für Eppendorf: eine schnelle und sichere Anwendung ohne aufwändige Einarbeitung. Denn tägliche Routineabläufe müssen häufig schnell und einfach gemeistert werden, um eine hohe Sicherheit in der Performance zu gewährleisten. Daher ist die Centrifuge 5424 R mit einem leicht bedienbaren und gut lesbaren Display ausgestattet. Zudem ist das Gerät in zwei Varianten erhältlich: mit Drehknöpfen für ein schnelles Einstellen der Parameter oder mit einer leicht zu reinigenden Folientastatur.

Das weitere Plus: flexible Rotorenvielfalt

Je nach individueller Anforderung ist die Centrifuge 5424 R mit vier verschiedenen Rotoren verwendbar.

- Aerosoldichter Rotor für 24 x 1,5/2,0 mL Gefäße
- Kit-Rotor: für das sichere Zentrifugieren von 18 x Spin Columns oder 1,5/2,0 mL Gefäßen mit offenem Gefäßdeckel. Der erhöhte Rand des Kit-Rotors verhindert das Abreißen von offenen Gefäßdeckeln während der Zentrifugation.
- Aerosoldichter Rotor (für 24 x 1,5/2,0 mL Gefäße) mit PTFE-Beschichtung für erhöhte Chemikalienbeständigkeit
- 4 x PCR-Streifen Rotor

Kit-Rotor™ (F-45-18-11-Kit)

Unser Beitrag für die Umwelt: „epGreen“

Eppendorfs Einsatz für einen grüneren Planeten zeigt sich in der „epGreen“-Initiative. Das Ziel ist es, alle Produkte kontinuierlich ökologischer auszurichten. Die Centrifuge 5424 R wurde daher nach aktuellsten Emissions- und Umweltgesichtspunkten entwickelt und setzt auch hier neue Standards.

Der Grundstromverbrauch wurde gegenüber dem Vorgängermodell um bis zu 25 % reduziert. Bei Nutzung der FastTemp-Funktion zum schnellen Vorkühlen der Zentrifuge werden sogar bis zu 60 % des Stromverbrauchs eingespart.

epGreen®

Möchten Sie weitere Informationen?

Den Prospekt zur Centrifuge 5424 R können Sie per Kennziffer bei uns bestellen.

Detaillierte Informationen finden Sie auch unter www.eppendorf.de/zentrifugen.

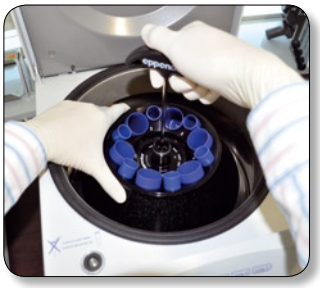
Centrifuge 5424 R • Kennziffer 235

JAN-HENDRIK BEBERMEIER, EPPENDORF AG

Sicheres und effizientes Zentrifugieren

Kennen Sie schon unser Poster „Maintenance of Centrifuges“? Es enthält nützliche Hinweise zur sachgerechten Reinigung und Wartung Ihrer Eppendorf Zentrifuge, eine kompakte Anleitung zur korrekten Beladung diverser Rotoren und weitere Tipps für sicheres und effizientes Zentrifugieren. Hier einige Beispiele aus dem Inhalt:

Den Rotor fest anziehen



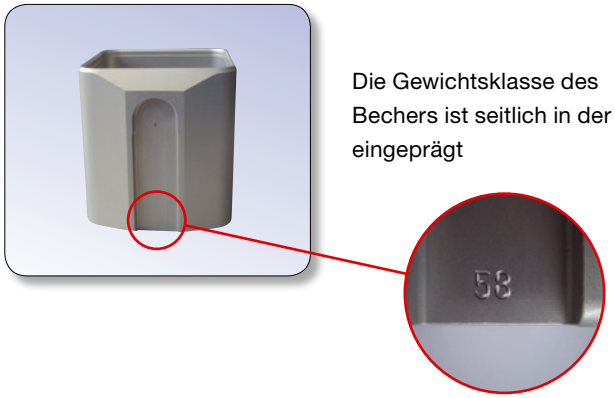
Vor der Zentrifugation müssen Sie die Rotormutter mit dem mitgelieferten Rotorschlüssel fest anziehen. Wenn Sie einen Ausschwingrotor verwenden, stellen Sie sicher, dass die Gehänge vollständig eingehängt sind. Prüfen Sie durch einen manuellen Ausschwingtest, ob die Gehänge frei ausschwingen können.

Maximale Beladung

Beachten Sie die auf den Rotor aufgedruckten Angabe für die maximale Zuladung. Beispiel: Die Angabe 4 × 1,1 kg besagt, dass das Gesamtgewicht je Gehänge mit Becher, Adaptern und gefüllten Probengefäßen 1,1 kg nicht überschreiten darf. Halten Sie außerdem die für Ihre Probengefäße festgelegten maximalen *g*-Zahlen ein.

Verwendung geeigneter Becher

Im Ausschwingrotor müssen gegenüberliegende Gehänge zur selben Gewichtsklasse gehören. Die Gewichtsklasse finden Sie seitlich am Becher.



Die Gewichtsklasse des Bechers ist seitlich in der Nut eingeprägt

Wahl des korrekten Adapters

Die Adapter müssen die Gefäße vollständig und sicher umschließen. Das Gefäß muss fest im Adapter sitzen.

falsch

Falsche Verwendung des Adapters: der obere Teil des Gefäßes wird nicht sicher gestützt.

richtig

Korrekte Verwendung des Adapters: der obere Teil des Gefäßes ist sicher umschlossen.

Für konische Gefäße Adapter mit konischer Bodenform verwenden.

Für Gefäße mit Rundboden einen flachen Adapterboden mit Gummimatte verwenden.

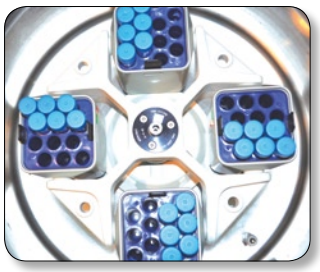
Rotorbestückung

falsch

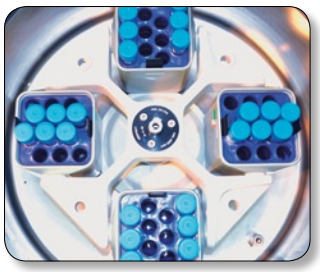
richtig

Festwinkelrotoren:

- Symmetrisch und ausgewogen bestücken.



falsch



richtig

Ausschwingrotoren:

- Becher und Adapter symmetrisch und ausgewogen bestücken.
- Die Gefäße im Becher so anordnen, dass die Rotorzapfen gleichmäßig belastet werden.
- Stets alle 4 Becher in den Rotor einsetzen, auch wenn nur 2 beladen sind.

Maintenance of Centrifuges

Prevention is Better than Restoring

eppendorf

In touch with life

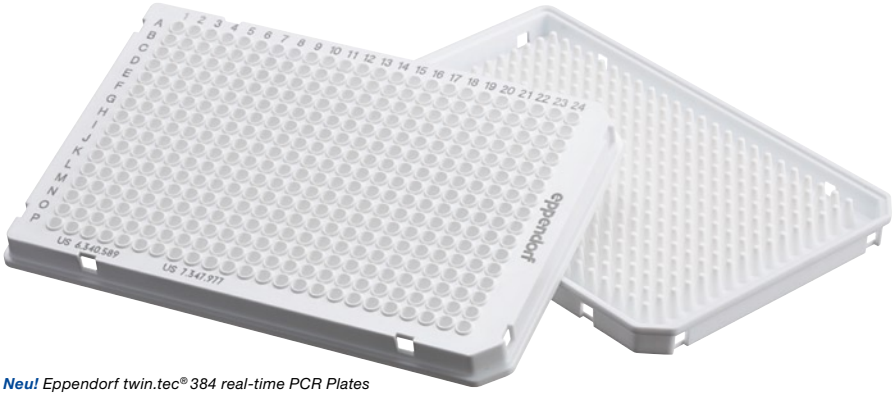
Das DIN A2 Poster **„Maintenance of Centrifuges“** (Best. Nr. AQ18636020) ist eine ideale Ergänzung zur Bedienungsanleitung und könnte schon bald auch Ihr Labor schmücken.

Bitte fragen Sie Ihren zuständigen Eppendorf Vertriebsmitarbeiter nach Ihrem persönlichen Gratisexemplar! (Nur in englischer Sprache erhältlich.)

KAY KÖRNER, EPPENDORF AG

384 weiße Wells – für Ihre real-time PCR

Die neuen Eppendorf twin.tec 384 *real-time* PCR Plates kombinieren alle Vorzüge der normalen twin.tec Plates mit den Vorteilen von 384 weißen Wells für Ihre real-time PCR.



Neu! *Eppendorf twin.tec® 384 real-time PCR Plates*

Die weißen Wells reflektieren Fluoreszenz bedeutend besser als transparente Wells. So werden auch Proben mit geringerer Fluoreszenzintensität messbar. Und das bei jedem einzelnen der 384 Wells! Zusätzlich reduzieren weiße Wells die störende Hintergrundfluoreszenz erheblich und führen zu einer verbesserten Homogenität der Replikate und somit zu höherer Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Neu! *Masterclear® real-time PCR Film*

***Neu!* Masterclear® real-time PCR Film**

Als ideale Verschlussoption empfehlen wir Ihnen Masterclear *real-time* PCR Film (selbstklebend).

- Hohe Lichttransmission (>90 % zwischen 450 nm und 750 nm) für sensitive real-time PCR
- Effektiver Klebeverschluss verhindert Verdunstung während der real-time PCR
- Rückstandsfreies Abziehen von der Platte
- PCR clean = Zertifiziert frei von humaner DNA, DNase, RNase und PCR-Inhibitoren

Mehr Informationen

Entdecken Sie alles zu Eppendorf PCR-Platten auf www.eppendorf.de/pcrplates oder fordern Sie per Kennziffer den aktuellen Prospekt „Die neue Weißheit“ zu real-time PCR Consumables ab!

Prospekt „Die neue Weißheit“ • Kennziffer 223

News

Beeinflussung von DNA-Messungen durch Kunststoffverbrauchsartikel

Kunststoffmaterialien sind aus unserem täglichen Leben kaum noch wegzudenken. Im molekularbiologischen und biochemischen Labor werden Einmalgefäße aus Kunststoff in beinahe jeder Anwendung eingesetzt.

In letzter Zeit häufen sich wissenschaftliche Berichte über die Beeinflussung von Messergebnissen durch bestimmte auswaschbare Additive, die einige Produzenten von Kunststoffverbrauchsartikeln bei der Herstellung zusetzen. Nicht nur sensitive enzymatische Assays sind hiervon betroffen. Durch bloßes Erhitzen von Proben in bestimmten Kunststoffgefäßen einiger Hersteller können sich Substanzen lösen, welche die Detektion von Biomolekülen wie DNA und Proteinen empfindlich stören und Konzentrationsbestimmungen verfälschen können (s. Application Note S. 1–2).

Erwärmt werden Proben in sehr vielen molekular- und zellbiologischen Standardanwendungen, wie z. B. der Zelllyse, bei der Zentrifugation oder PCR. Durch Verzicht auf Entformungshilfen, Biozide, Weichmacher und Substanzen, die DNA-Messungen beeinflussen können, sind Eppendorf Gefäße und Spitzen sehr gut für alle sensitiven Nachweismethoden im Labor geeignet (www.eppendorf.de/consumables).

Setzen Sie daher auf Eppendorf Qualität – für reproduzierbare und sichere Ergebnisse!

DANIEL WEHRHAHN, EPPENDORF AG

Beeinflussung photometrischer Analysen durch aus Kunststoffgefäßen herausgelöste UV-absorbierende Substanzen (Leachables)

Natascha Weiß, Eppendorf AG, Hamburg
Wolf Wente und Stefanie Topp, Eppendorf Instrumente GmbH, Hamburg

Einleitung

In einer *Science* Publikation von 2008 und weiteren Veröffentlichungen wurde beschrieben, dass Gleitmittel und Biozide, die aus Gefäßen und Spitzen herausgewaschen wurden, Aktivität in spezifischen Enzymassays zeigen können [1, 2]. Die Folge sind falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse, die zu einem hohen Kosten- und Zeitaufwand führen.

Auch Routineanwendungen können nachweislich beeinträchtigt werden [3]. Durch Arbeitsschritte im Labor, bei denen die Temperatur der Probe bei 37 °C oder höher liegt, gelangen UV-absorbierende Substanzen aus Kunststoffgefäßen in die Probe. Da sie Licht in dem Bereich absorbieren, in dem auch Nukleinsäuren und Proteine Absorptionsmaxima aufweisen, stellen sie eine Fehlerquelle in photometrischen Nachweisreaktionen mit Auswirkungen auf nachfolgende Anwendungen dar.

Der Einsatz von Einmalartikeln im Labor, die eine hohe Qualität aufweisen und möglichst wenige Additive beinhalten, die sich herauslösen können, ist demnach empfehlenswert.

Für diesen Technical Report wurden Experimente analog zur Veröffentlichung von Lewis *et al.* [3] durchgeführt. Diese hatten beschrieben, dass die getesteten Eppendorf Gefäße deutlich bessere Ergebnisse lieferten als Wettbewerber, aber keine Daten dazu gezeigt. Es wurden deshalb Eppendorf Safe-Lock Tubes 1,5 mL und Eppendorf 0,2 mL PCR Tubes sowie vergleichbare Gefäße anderer Hersteller getestet. Nach Inkubation von Wasser bei unterschiedlichen Temperaturen wurden Absorptionsscans und Messungen im UV-Bereich durchgeführt, um zu überprüfen, ob Komponenten herausgelöst werden, die photometrische Analysen beeinträchtigen können.

Die Extinktion kann dabei als proportional zur Menge sich herauslösender Substanzen angesehen werden.

Material und Methoden

Jeweils drei Eppendorf Safe-Lock Tubes 1,5 mL und vergleichbare Gefäße von zwei Wettbewerbern wurden mit je 1 mL Wasser (für die Molekularbiologie) befüllt und wie folgt inkubiert:

a) 95 °C für 30 min,
b) 70 °C für 30 min,
c) 37 °C für 24 h.

In 0,2 mL PCR Tubes von Eppendorf und von zwei anderen Herstellern wurden jeweils 150 µL Wasser gegeben. Die eine Hälfte der Gefäße wurde im Thermocycler einem PCR-Protokoll unterzogen (30 PCR-Zyklen: 95 °C – 30 s/60 °C – 30 s/ 72 °C – 2 min), während die übrigen Gefäße bei Raumtemperatur (RT) inkubiert wurden. Jede Probe wurde im Spektrophotometer einem Scan über den Wellenlängenbereich 190–400 nm unterzogen und die Werte der zusammengehörigen Proben gemittelt. Für die Hintergrundbestimmung (Nullwert) wurde nichtinkubiertes Wasser eingesetzt. Für eine weitere Messreihe im Eppendorf BioPhotometer plus wurde ebenfalls je 1 mL Wasser in jeweils drei Safe-Lock Tubes und in Gefäßen von drei Wettbewerbern bei 95 °C für 30 min inkubiert. Es wurden die Extinktionen bei 260 nm und 280 nm bestimmt, die Werte der drei Replikate gemittelt und die Standardabweichung berechnet. Weiterhin wurde aus der Extinktion bei 260 nm mit dem Faktor 50 µg/mL die sich aus den Messwerten theoretisch ergebende Menge an dsDNA errechnet.

Ergebnisse und Diskussion

Abb. 1 zeigt, dass in Eppendorf Gefäßen inkubiertes Wasser keine signifikante Extinktion im gemessenen Wellenlängenbereich aufweist. Die Proben, die aus Gefäßen anderer Hersteller entnommen wurden, wiesen dagegen ein deutlich erkennbares, temperaturabhängiges Absorptionsprofil auf. Die stärkste Ausprägung ist bei 95 °C (Abb. 1a) zu sehen. Für 70 °C und 37 °C lagen die Werte niedriger (Daten nicht gezeigt).

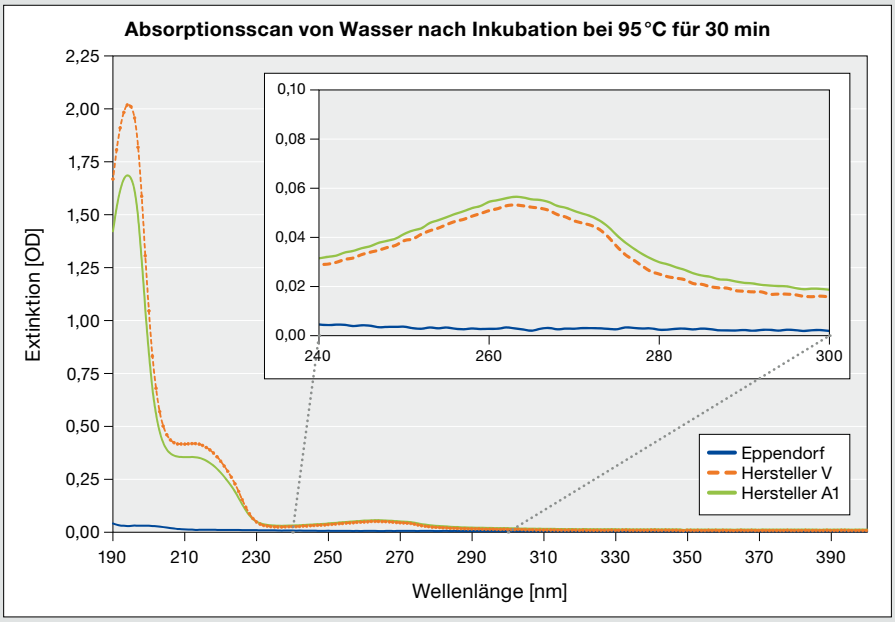


Abb. 1a: *Absorptionsspektrum von Wasser nach Inkubation in 1,5 mL Gefäßen bei 95 °C für 30 min*

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Beeinflussung photometrischer Analysen durch aus Kunststoffgefäßen herausgelöste UV-absorbierende Substanzen (Leachables)

Vergleichbares gilt für die PCR-Gefäße: Das Wasser aus im Thermocycler behandelten Wettbewerbsgefäßen wies höhere Extinktionen auf als das Wasser, welches RT ausgesetzt wurde (Abb. 1b).

Demnach werden aus den getesteten Gefäßen der Wettbewerber anscheinend Substanzen herausgelöst, die Licht im UV-Bereich absorbieren. Die größten Werte sind jeweils knapp über 190 nm zu erkennen. Wasser aus den 1,5 mL Tubes weist zusätzlich noch Absorptionssignale im Bereich 210–220 nm und 260 nm auf (Abb. 1a).

Gerade diese Wellenlängen spielen bei der photometrischen Analyse von Biomolekülen eine wichtige Rolle. Proteine können beispielsweise bei 205 nm oder 280 nm direkt gemessen werden, während Nukleinsäuren bei einer Extinktion von 260 nm bestimmt werden. Eine Auswirkung herausgelöster UV-absorbierender Komponenten wird in Abb. 2 verdeutlicht. Hier sind die gemessenen Extinktionen bei 260 nm und 280 nm des bei 95 °C inkubierten Wassers aus einem weiteren Experiment dargestellt. Zusätzlich wird die theoretische Menge an dsDNA angezeigt, die sich aus dem Messwert ergeben würde. Der Wert für die Proben aus den Eppendorf Safe-Lock Tubes lag unterhalb der Nachweisgrenze (LOD = limit of detection), während das Wasser aus den anderen getesteten Gefäßen Werte oberhalb der Bestimmungsgrenze (LOQ = limit of quantification) einnahm. Bei einer Bestimmung von DNA würden sich demzufolge zu hohe Werte ergeben. Wenn die tatsächliche DNA-Menge also niedriger ist als die gemessene, könnten nachfolgende Anwendungen negativ beeinflusst werden.

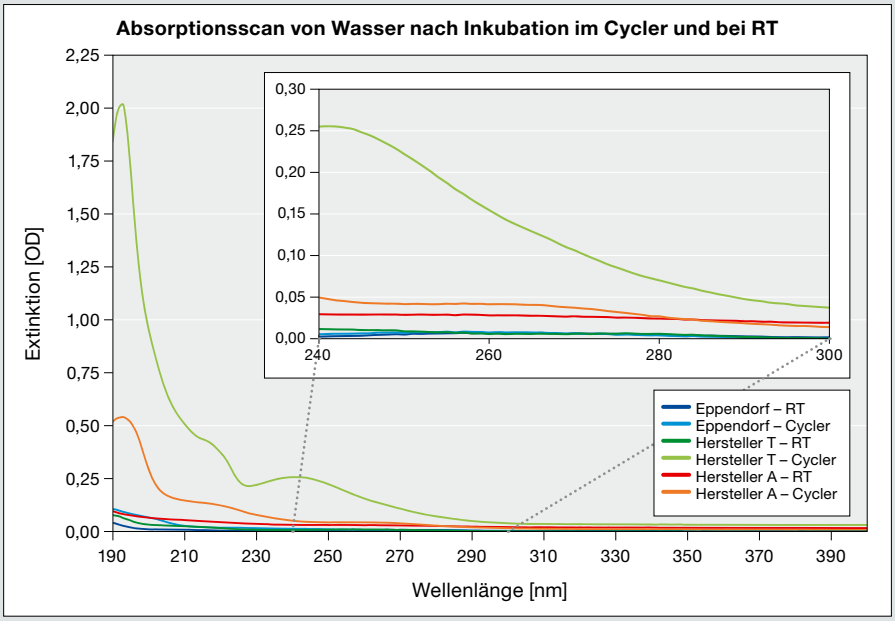

Absorptionsscan von Wasser nach Inkubation im Cycler und bei RT
Extinktion [OD]
Wellenlänge [nm]
Eppendorf – RT
Eppendorf – Cycler
Hersteller T – RT
Hersteller T – Cycler
Hersteller A – RT
Hersteller A – Cycler

Abb. 1b: *Absorptionsspektrum von Wasser nach Inkubation in 0,2 mL PCR-Gefäßen im Thermocycler und bei RT*

Fazit

Durch photometrische Analysen konnte bestätigt werden, dass UV-absorbierende Substanzen, die sich aus Kunststoffgefäßen einiger Hersteller lösen, die Detektion von Biomolekülen wie Nukleinsäuren und Proteinen stören können. Proben aus Eppendorf Tubes zeigten keine signifikant beeinträchtigten Messwerte. Hier, wie auch in vielen publizierten Untersuchungen mit empfindlichen zellbasierten Assays zeigen sich somit Unterschiede bei Kunststoffeinmalartikeln verschiedener Anbieter. Durch den Verzicht auf Gleitmittel und verschiedene andere Additive bei der Produktion sind Eppendorf Tubes sehr gut für sensitive Nachweismethoden im Labor geeignet.

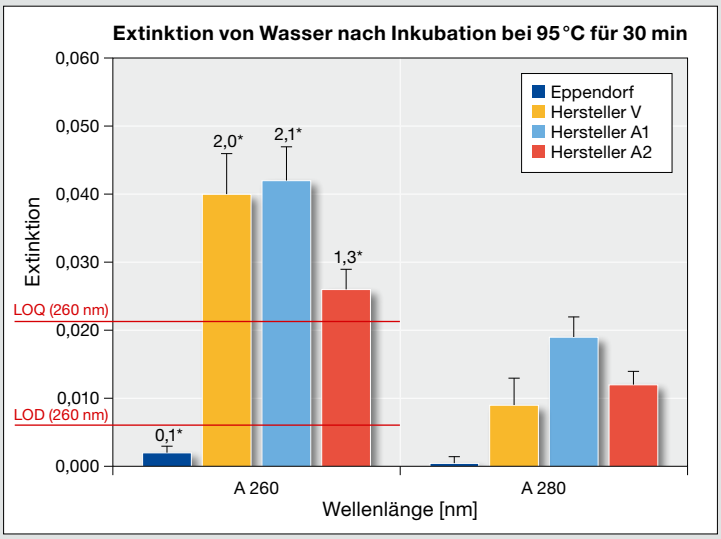


Abb. 2: *Extinktion von Wasser bei 260 nm und 280 nm nach Inkubation in 1,5 mL Gefäßen bei 95 °C für 30 min*

**Die angegebenen Zahlenwerte stellen die aus der Extinktion berechnete „theoretische" Menge an dsDNA in µg/mL dar.*

Die sich ergebende LOD (limit of detection) liegt bei 0,006 E ≙ 0,3 µg/mL, die LOQ (limit of quantification) bei 0,021 E ≙ 1,0 µg/mL.

Literatur

[1] McDonald GR, Hudson AL, Dunn SM, You H, Baker GB, Whittal RM, Martin JW, Jha A, Edmondson DE, Holt A. Bioactive contaminants leach from disposable laboratory plasticware. *Science* 2008; 322(5903):917

[2] McDonald GR, Kozuska JL, Holt A. Bioactive Leachates from Lab Plastics. *G.I.T. Laboratory Journal Europe* 2009; 13:24-26

[3] Lewis LK, Robson M, Vecherkina Y, Ji C, Beall G. Interference with spectrophotometric analysis of nucleic acids and proteins by leaching of chemicals from plastic tubes. *BioTechniques* 2010; 48(4) 297-302

Mehr zu Eppendorf Safe-Lock Tubes auf www.eppendorf.de/consumables

Leserservice
Eppendorf Safe-Lock™ Reaktionsgefäße • Kennziffer 8
Eppendorf BioPhotometer® plus • Kennziffer 221

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Isolierung von fluoreszenzmarkierten sensorisch-neurosekretorischen Zellen aus dem Vorderhirn transgener *Medaka*-Embryonen mit Hilfe von Eppendorf PatchMan™ NP 2, CellTram® vario und Rowiak CellSurgeon

Kristin Tessmar-Raible[1], Katharina Schipany[1] und Sabine Przemeck[2]
[1]Max F. Perutz Laboratories, Universität Wien, Österreich
[2]Rowiak GmbH, Hannover, Deutschland

Zusammenfassung

Für eine repräsentative Analyse von Zellgruppen in transgenen Modelltieren ist Zellmaterial mit der geringstmöglichen Kontamination durch unspezifische Zellen erwünscht. Gegenstand dieser Arbeit ist die erfolgreiche Isolierung der fluoreszenzmarkierten sensorisch-neurosekretorischen Zellen des Vorderhirns transgener Medaka-Embryonen durch eine Kombination aus laserunterstützter Exzision (CellSurgeon, Rowiak GmbH) und der Entfernung der exzisierten Zellen mit Hilfe der CellTram vario und des Eppendorf PatchMan NP 2.

Einleitung

Medaka ist ein etablierter Modellorganismus für die Analyse zellulärer Signalübertragung in der Entwicklungsforschung sowie in der Neurobiologie [1].

Transgene Tiere, welche unter spezifischen Promotoren/Enhancern fluoreszierende Proteine exprimieren, sind von besonderem Interesse, da sie zum besseren Verständnis der während der verschiedenen Entwicklungsstadien greifenden Kontrollmechanismen beitragen. In diesem Zusammenhang ist die Analyse von Umwelteinflüssen auf das Transkriptom der Zellen von großem Interesse. Derartige Transkriptomanalysen können mit Hilfe moderner Technologien, einschließlich next generation sequencing, durchgeführt werden. Um den Erfolg zu gewährleisten, muss das Ausgangsmaterial so rein wie möglich sein. Die Gewinnung von Zellmaterial hochreiner Qualität aus kleinen Gewebsstückchen, wie z. B. dem *Medaka*-Vorderhirn, ist allerdings eine schwierige Aufgabe.

Durchgeführt wurden diese Arbeiten mit dem Rowiak CellSurgeon und einem Eppendorf Mikromanipulator-System. Rowiak CellSurgeon ist ein Laser-Scanning-Mikroskop mit Schneidefunktion, das zur Darstellung, zur Vermessung und zum Ausschneiden von Gruppen sensorisch-neurosekretorischer Zellen aus dem Vorderhirn von *Medaka*-Embryonen, welche m-cherry red exprimieren, eingesetzt wurde. Herausgeschnittene Zellgruppen wurden sodann mit Hilfe einer 10 µm Mikrokapillare entfernt, die durch den PatchMan NP 2 Mikromanipulator und CellTram vario Mikroinjektor kontrolliert wurde.

Material und Methoden

Mikromanipulator-System

- PatchMan NP 2 (Eppendorf)
- CellTram vario (Eppendorf)
- CustomTip Typ I: 10 µm, Kapillare mit stumpfem Ende (blunt end capillaries) (Eppendorf)

CellSurgeon (Rowiak, Hannover) ausgestattet mit:

- Inverses Mikroskop AxioObserver D1 (Zeiss, Jena)
- T-Pulse 200; 10 MHz; 2,5 W, 1030 nm (Amplitude Systems, Pessac, Frankreich)
- Kamera Jenoptik ProgRes MF-cool (Jenoptik, Jena)

Tiere

- *Medaka*-Embryonen (Linie 2216) mit m-cherry red markierten sensorisch-neurosekretorischen Zellen (K. Tessmar-Raible)

Weitere Materialien

- 35 mm Petrischalen mit 0,17 mm Glasboden (WillCo Wells, Amsterdam, Niederlande)
- 6 % Methylcellulose
- Embryo-Aufzuchtmedium (1x ERM)
- 4 % Tricain Methansulfonat (Stammlösung)

Vorbereitung von 35 mm Schalen und Einstellung des Mikromanipulator-Systems

Um das Vorderhirn in einem möglichst flachen Winkel zu erreichen, wurden die Schalen auf eine Höhe von 4 bis 5 mm zurechtgeschnitten, und der Kapillarhalter wurde in die untere Halterung des X-Kopfes eingesetzt. Der Winkel des Universalkapillarhalters wurde so eingestellt, dass die Kapillare bis zum Erreichen des eingebetteten Embryos auf der selben Fokalebene direkt über den Glasboden geführt werden konnte. Dies war notwendig, um ein Verschieben der Position des Embryos nach der Identifikation von Zellgruppen zu vermeiden, da Feinbewegungen der Mikrokapillare durch die viskose Methylcellulose deutlich behindert und verlangsamt werden.

Einbettung der Embryonen

Chorionierte Embryonen wurden mit 0,4 % Tricain anästhesiert und auf dem Glasboden einer 35 mm Schale, welche zum Teil mit 6 % Methylcellulose befüllt war, gebettet. Nachdem die Embryonen vorsichtig mit den Augen gegen den Glasboden ausgerichtet waren, wurden sie auf fluoreszierende Zellgruppen untersucht (Abb. 1).

Positive Embryonen wurden mit einer Überdosis Tricain Methansulfonat getötet und manuell unter dem Stereomikroskop aus dem Chorion präpariert. Geschlüpfte/dechorionierte Embryonen wurden ebenfalls in 6 % Methylcellulose eingebettet, allerdings wurden diese auf ihren Rücken gelegt, mit ihren Köpfen nahe am Schalenboden.

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Isolierung von fluoreszenzmarkierten sensorisch-neurosekretorischen Zellen aus dem Vorderhirn transgener *Medaka*-Embryonen mit Hilfe von Eppendorf PatchMan™ NP 2, CellTram® vario und Rowiak CellSurgeon

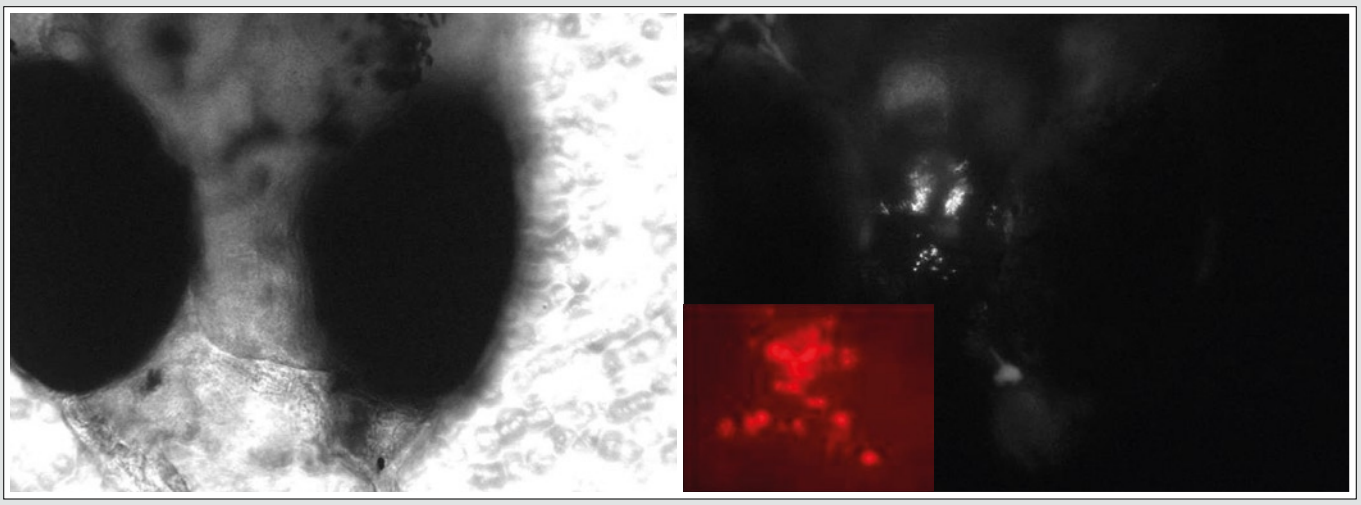


Abb. 1

Positionierung der Mikrokapillare

Mit Hilfe der 20 x Vergrößerung und Hellfeldbeleuchtung wurde die Mikrokapillare in die Fokalebene nahe des Embryonenkopfes gebracht. Um präzises Positionieren zu gewährleisten, wurde dann zur 40 x Vergrößerung gewechselt. Um eine exakte Positionierung der Spitze im Verhältnis zur Zellgruppe zu erreichen, wurde die Position mittels Fluoreszenzaufnahmen überprüft. Diese Position wurde als Position 1 mit Hilfe des PatchMan NP 2 gespeichert. Die Mikrokapillare wurde um ein paar Millimeter zurückgezogen und dann leicht aufwärts bewegt.

Laser-unterstützte Exzision der Zellgruppen

Zellgruppen wurden im Laser-Scanning-Modus mit dem 40 x Objektiv aufgenommen, um ihre x-, y- und z-Dimensionen zu bestimmen. Die so bestimmten Abgrenzungen (oder äußeren Grenzen) des Zellclusters wurden verwendet, um die Schnittgrenzen festzulegen. Es wurde hierfür eine Würfelform gewählt, die möglichst nah an die Grenze des Zellclusters angelegt wurde (Abb. 2).

Entfernung der Zellgruppen

Wie in Abb. 3 gezeigt, wurden die ausgeschnittenen Zellgruppen im Fluoreszenzmodus bei 20 x oder 40 x Vergrößerung dargestellt, und die Mikrokapillare wurde langsam (Einstellung fein oder extra-fein) wieder in Position 1 gebracht. Die Zellgruppen wurden mit Hilfe des Feintriebes der CellTram vario angesaugt.

Die Mikrokapillare wurde langsam zurückgezogen und sodann in die Ausgangsposition geführt. Die Zellgruppen wurden durch Drehen des Feintriebes im Uhrzeigersinn in ein Eppendorf-Gefäß überführt.

Ergebnisse und Diskussion

Mit Hilfe der Laser-Scanning-Mikroskopie (Rowiak Cell Surgeon) waren wir in der Lage, die Dimensionen von Zellgruppen zu bestimmen, um diese zu exzisieren. Isolierte Zellgruppen bestanden zu etwa 75 % aus den interessierenden Zellen; so dass eine weiterführende molekularbiologische Analyse, wie z. B. eine Transkriptomanalyse, möglich wäre. Die besonders feine Auflösung der Mikroschritte beim PatchMan NP 2 ermöglicht eine präzise Positionierung der Mikrokapillare sowohl vor als auch nach der Exzision. Das erfolgreiche Entnehmen der Zellgruppen wurde durch die CellTram vario ermöglicht; diese bietet ein äußerst geringes minimales Einstellungsvolumen (Feintrieb) und ermöglicht somit ein Vakuum, welches gerade richtig ist, um die Zellgruppen zu entfernen, ohne dabei Einzelzellen von der Gruppe zu lösen.

Die oben beschriebene Methode könnte für Forscher, die mit kleinen transgenen Modelltieren arbeiten, bei der Aufklärung von genetischen Eigenschaften von hohem Wert sein.

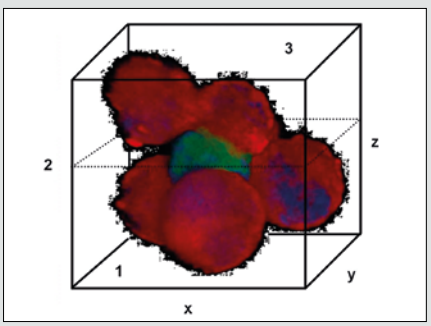


Abb. 2

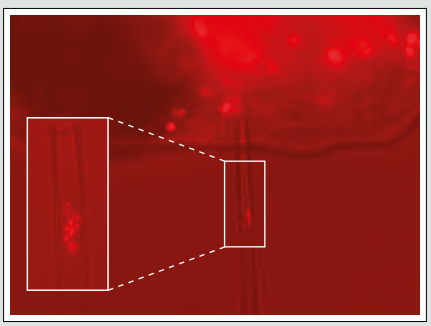


Abb. 3

Literatur

[1] Wittbrodt, J. *et al.* (2002).
Medaka – a model organism from the Far East.
Nature Reviews Genetics 3, 53-64.

Leserservice
PatchMan™ • Kennziffer 52
CellTram® • Kennziffer 77

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Schnelle und zuverlässige Multiplex-PCR auf dem Mastercycler® pro zur Pathogen-Detektion in Vollblut-Proben mit Hilfe des VYOO®-Kits

Kristin Wessel und Roland Schmitz, SIRS-Lab GmbH, 07745 Jena

Zusammenfassung

Sepsis, ausgelöst durch pathogene Bakterien oder Pilze, stellt weltweit eine zunehmende Gefahr in Krankenhäusern dar und ist eine der häufigsten Todesursachen von stationär behandelten Patienten. Eine schnelle und effiziente Diagnostik ist für eine adäquate Behandlung dieser Art von Infektion lebenswichtig. Eine neue Möglichkeit der Diagnostik, die wir hier vorstellen möchten, ist die Multiplex-PCR-basierte Detektion und Identifikation (VYOO-Kit, SIRS-Lab, Jena) von Bakterien und Pilzen direkt aus Vollblut.

Mit Hilfe der Multiplex-PCR auf dem Mastercycler pro wurden aus Vollblut intensiv-stationär behandelter Patienten isolierte DNA-Proben auf Sepsis auslösende Pathogene untersucht. Der Assay ermöglicht mittels gelbasierter Detektion spezifischer PCR-Produkte den Nachweis von 34 Bakterien- und 6 Pilzarten sowie von 5 Antibiotika-Resistenzen.

Einleitung

Sepsis ist eine systemische Entzündungsreaktion des Organismus auf mikrobielle Infektionen und gehört zu den Haupttodesursachen von Patienten auf Intensivstationen. Mit 154.000 Fällen p. a. allein in Deutschland beansprucht die Behandlung dieser Krankheit ca. 30 % des Budgets der Intensivstationen [1]. Ein früher Therapiebeginn, möglichst innerhalb der ersten Stunden, ist entscheidend für das Überleben der Patienten [2–4]. Epidemiologische Daten belegen, dass inadäquate Antibiotikatherapien zu einer Verdopplung der Todesrate führen [5] und die Verspätung des Beginns adäquater Therapien eine Erhöhung der Sterblichkeit um 7 % pro Stunde zur Folge hat [6]. Zusätzlich stellen die Entwicklung und Verbreitung von Antibiotika-Resistenzen, die sich als Folge von Überdosierungen entwickelt haben, ein erhebliches Gesundheitsrisiko dar [7]. Im Vergleich zu der bisher in der Routine angewandten kulturbasierten Diagnostik, erlaubt die Nukleinsäure-Amplifikations-Technik (NAT) eine Spezies- und Resistenzdetektion innerhalb weniger Stunden. Mögliche Einflüsse auf die Sensitivität eines solchen Assays durch Faktoren wie z. B. Salze und Blutkomponenten können durch eine Probenvorbereitung mittels Affinitätschromatographie minimiert werden.

Der VYOO-Kit (CE-gekennzeichnet 2008) kombiniert eine solche Probenaufbereitung mit einer sensitiven Multiplex-PCR-basierten Pathogendetektion und ermöglicht eine Diagnostik in weniger als einem Arbeitstag [8, 9].

Material und Methoden

Mechanische Zelllyse

EDTA-Vollblut wurde homogenisiert und in Reaktionsgefäße mit Glas-Bead-Matrix und Entschäumer gegeben; Endosporen von *Bacillus subtilis* dienten als interne Kontrolle. Die Zellen wurden lysiert und anschließend proteolytisch verdaut [11].

Isolierung genomischer DNA

Die DNA der verdauten Lysatproben wurde nach einem Standard-Protokoll isoliert und in geeignetem Puffer aufgenommen [11].

Anreicherung von Bakterien- und Pilz-DNA mit LOOXSTER®

Die Gesamt-DNA wurde in zentrifugierbare Affinitätschromatographie-Säulchen überführt, gemäß Standard-Verfahren bearbeitet und abschließend in 30 µL Wasser gelöst. Die DNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt [11].

Multiplex-PCR-Detektion pathogenspezifischer Zielsequenzen

Die Standard Multiplex-PCR wurde mit zwei Pools spezifischer Primer durchgeführt. Der Assay erfasst 34 Bakterien- und 6 Pilzspezies, u. a.: *Bacteroides fragilis, Burkholderia cepacia, Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Clostridium perfringens, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Klebsiella oxytoca, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus sanguinis* [11]. Darüber hinaus wird ein Set von Antibiotika-Resistenzen (z. B. Methicillin, Vancomycin und ß-Lactamasen) spezifisch abgedeckt. *Bacillus subtilis*-spezifische Primer sind als interne Kontrolle in jedem Primer-Pool enthalten.

Die PCR wurde in PCR-Reaktionsgefäßen des VYOO-Kits, welche die lyophilisierten Primer enthalten, angesetzt. Außerdem enthält jede PCR-Reaktion 1x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix (QIAGEN, Hilden) und ≤ 1 µg angereicherte mikrobielle DNA und DNA-/DNase-freies Wasser. DNA-freie Negativkontrollen wurden als „No Template Controls“ (NTC) mitgeführt. Die PCR-Reaktion wurde auf dem Mastercycler pro durchgeführt (Abb. 1).

Die Multiplex-PCR-Amplifikate wurden auf einem Agarosegel analysiert und anhand eines Pool-spezifischen Längenmarkers den Pathogenen und/oder Antibiotikaresistenzen zugeordnet.

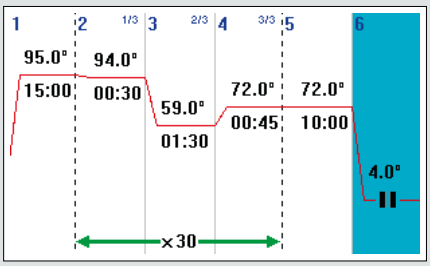


Abb. 1: *Temperaturprofil des PCR-Programmes auf dem Mastercycler pro.*

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Schnelle und zuverlässige Multiplex-PCR auf dem Mastercycler® pro zur Pathogen-Detektion in Vollblut-Proben mit Hilfe des VYOO®-Kits

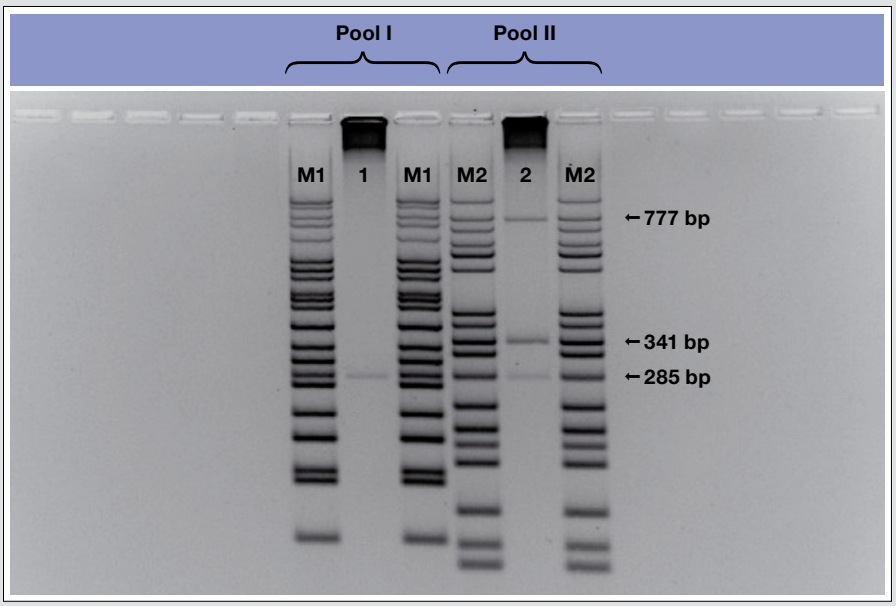


Abb. 2: *VYOO-Kit-Nachweis genomischer DNA von Enterococcus faecium in einer Vollblutprobe. Die Proben wurden intensiv-stationär behandelten Patienten, die unter Sepsis-Verdacht standen, entnommen.* ***M1/2:*** *DNA Marker Pool I/II;* ***1:*** *Primer Pool I-getestete DNA-Probe;* ***2:*** *Primer Pool II-getestete DNA-Probe;* ***1:*** *B. subtilis-spezifische Bande bei 285 bp als interne Kontrolle;* ***2:*** *E. faecium-spezifische Bande bei 777 bp, vanA-Resistenz-spezifische Bande bei 341 bp, B. subtilis-spezifische Bande bei 285 bp als interne Kontrolle.*

Ergebnisse

Nach Aufbereitung exemplarischer EDTA-Vollblutproben von Patienten mit Verdacht auf Sepsis zeigte die Gelanalyse der PCR-Produkte spezifische Einzelbanden (Abb. 2). Wie ein Vergleich mit den spezifischen Markerbanden ergab, waren die Amplifikate spezifisch für *Enterococcus faecium* und Vancomycin A-Resistenz (Pool 2).

Die Positivkontrollen (*Bacillus subtilis*) waren sichtbar und die Diagnose konnte mit weiteren klinischen Untersuchungen bestätigt werden. Die analytische Sensitivität des Assays wurde zuvor mit <10 Kolonie-bildenden Einheiten (cfu)/mL getestet.

Diskussion

Die Kombination von bis zu 25 Primerpaaren in einer einzigen Multiplex-PCR-Reaktion stellt sowohl für die Sensitivität wie auch für die Spezifität eine große Herausforderung dar. Für die Detektion von Pathogenen in Körperflüssigkeiten, wie z. B. Sepsis hervorrufenden Pathogenen im Blut, müssen Assays eine umfassende Auswahl von Einzelnachweisen enthalten, um einen sinnvollen Einsatz in der klinischen Diagnostik zu gewährleisten. Während Primer mit einer weiten Detektionsspanne hinsichtlich häufig vorkommender falsch-positiver Diagnosen und einem hohen Kontaminationsrisiko in der Diskussion stehen [10], scheint die Verwendung einer Kombination aus spezifischen Primern eine echte Alternative darzustellen. Allerdings muss die klinische Sensitivität den diagnostischen Bedürfnissen entsprechen und eine maximale Spezifität gewährleistet sein.

Die hier präsentierten Ergebnisse des VYOO-Kits zeigen, dass die Multiplex-Anwendung eine Detektion auch von geringen DNA-Mengen mit hoher Spezifität und Sensitivität ermöglicht. Der Mastercycler pro erfüllt die erforderlichen Voraussetzungen für einen solch komplexen PCR-Assay. Das Gerät trägt zur Minimierung von Varianzen in den labortechnischen Prozessabläufen und somit zu einer hohen Verlässlichkeit dieses Assays bei.

Die Analyse von Vollblut-Proben mit Hilfe der Multiplex-PCR auf Bakterien- und Pilz-DNA ist eine verlässliche und schnelle Methode zur Detektion von Infektionen. Sie kann klinische Untersuchungen unterstützen und beschleunigen sowie eine verbesserte gezielte Antibiotika-Therapie ermöglichen.

Literatur

[1] Reinhart K *et al.* Diagnosis and therapy of sepsis. *Clin Res Cardiol 95*, 429-454 (2006)

[2] Ibrahim EH *et al.* The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest 118*, 146-155 (2000)

[3] Fine JM *et al.* Patient and hospital characteristics associated with recommended processes of care for elderly patients hospitalized with pneumonia. *Arch Intern Med 162*, 827-833 (2002)

[4] Garnacho-Montero J *et al.* Impact of adequate empirical antibiotic therapy of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med 31*, 2742-2751 (2003)

[5] Vallés J *et al.* Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. *Chest 123*, 1615-1624 (2003)

[6] Iregui M *et al.* Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. *Chest 122*, 262-268 (2002)

[7] Chastre J. *et al.* Evolving problems with resistant pathogens. *Clin Microbiol Infect 14*, 3-14 (2008)

[8] Schmitz RPH *et al.* New approaches in fungal DNA preparation from whole blood and subsequent pathogen detection via multiplex PCR. In: Y. Gherbawy, K. Voigt (eds.): *Molecular identification of fungi.* Springer Verlag, pp. 317-335, ISBN 978-3-642-05041-1 (2009)

[9] Bruns T *et al.* Identification of bacterial DNA in neutrocytic and non-neutrocytic cirrhotic ascites by means of a multiplex polymerase chain reaction. *Liver Int 29*, 1206-1214 (2009)

[10] Schmitz RPH, Lehmann M. Pan-bacterial detection of sepsis-causative bacteria. In: *Molecular detection of human pathogens*. D. Liu (ed.), Taylor & Francis CRC Press (in press) (2010)

[11] Weiterführende Details können der Eppendorf Application Note 231 entnommenen werden (s. www.eppendorf.de/applications).

Leserservice
Mastercycler® pro • Kennziffer 224

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Automatisierte Isolierung pflanzlicher DNA mit Hilfe des Nucleon® Plant DNA Kits auf der ep*Motion*® 5075 TMX

Alison Hobday Botwright und Sheila Doyle, Gen-Probe Life Sciences Ltd., Manchester, United Kingdom
Eric Cairns und Warren Higgins, Gen-Probe Life Sciences Ltd., West Lothian, United Kingdom

Einleitung

Die Voraussetzung für eine erfolgreiche Analyse auf dem Gebiet der Molekularbiologie der Pflanzen ist die Isolierung hochqualitativer genomischer DNA. Die Aufreinigung dieser DNA kann zeitaufwendig sein, insbesondere im Rahmen umfangreicher Projekte, bei welchen zahlreiche Einzelproben bearbeitet werden müssen. Aus diesem Grund ist eine zuverlässige, reproduzierbare automatisierte Methode, die gleichzeitig einfach anzuwenden ist, sehr wünschenswert. In diesem Report stellen wir eine automatisierte Methode zur Isolierung genomischer DNA aus Pflanzen mit Hilfe des Nucleon Plant DNA Kits von Gene-Probe Life Sciences auf der Eppendorf Workstation ep*Motion* 5075 TMX vor.

Es zeigte sich, dass die automatisierte Methode konsistent hochmolekulare DNA von hoher Reinheit aus allen untersuchten Proben erbrachte. Mit einer Bearbeitungszeit von 4 Stunden (bei minimaler manueller Intervention) für 96 Proben, ohne nachweisbare Kreuzkontamination der Proben, stellt diese Methode ein praktisches, einfach anwendbares automatisiertes Verfahren für die Isolierung pflanzlicher DNA dar.

Das Nucleon Plant DNA Kit wurde für die schnelle, kostensparende Isolierung großer Ausbeuten hochreiner DNA aus einer Vielzahl pflanzlicher Materialien entwickelt.

Der Aufreinigungsprozess basiert auf der reversiblen Bindung der DNA an neuartige magnetische Beads. Die nicht Silika-beschichteten Beads liegen im Nanometermaßstab vor und können somit zu funktionellen Komplexen aggregieren. Diese Komplexe ermöglichen die DNA-Aufreinigung aus komplexen Gemischen und liefern konsistente Qualität und Ausbeute.

Die ep*Motion* 5075 TMX enthält ein integriertes Thermomischer-Modul zum Mischen und Erwärmen der Proben. Das TMX-Modul ist von einem Greifer be- und entladbar. Das integrierte TMX-Modul sorgt dafür, dass der Lyseprozess, welcher der Probenspaltung folgt und durch Inkubation bei erhöhten Temperaturen verbessert wird, automatisch durchgeführt werden kann. Dies trägt erheblich zur Reduzierung der manuellen Bearbeitungszeit bei. Dieser Inkubationsschritt ist für eine erhöhte Ausbeute hochreiner DNA unabdingbar. Das ep*Motion* TMX System unterstützt alle Schritte der DNA-Bindung, des Waschens, Trocknens und der Elution vollständig und liefert hohe Ausbeuten gebrauchsfertiger, hochqualitativer eluierter DNA für verbesserten Einsatz in Nachfolgeapplikationen, wie z. B. Restriktionsverdau.

Material und Methoden

Eppendorf epMotion TMX

Nucleon Plant DNA Kit (Gen-Probe Life Sciences, Wiesbaden)

Multi-magnetische Probenplatte

Promega Magnabot 96 (Promega, Mannheim)

Probenmaterial

Kohlblätter, Kiefernnadeln, Rosenblätter, Salat und Mais sowie Gerste. Für jede einzelne Probe wurden 30 mg Pflanzenmaterial in die vorgelegten Lysegefäße mit Stahlkugeln gegeben.

Automatisierung

Der automatische Vorgang beginnt mit dem Transfer der Probengefäße in die Position TMX; gefolgt von der Zugabe des Lysepuffers in jedes Probengefäß (TMX). Danach erfolgt die Zugabe des Pflanzenneutralisierungspuffers. Die Lysegefäße werden aus der ep*Motion* genommen und in einer Mischmühle homogenisiert. Anschließend werden die Gefäße zentrifugiert, um die Zelltrümmer zu entfernen und danach erneut in die ep*Motion* eingesetzt. Das automatisierte Protokoll fährt mit dem Mischen, der Erwärmung und mit den Inkubationsschritten fort. Vor der Zugabe der magnetischen Beads und RNase sollte die Suspension der magnetischen Beads vorsichtig gemischt werden. Die Bindungs- und Waschschritte schließen sich an. Die fertige Probe wird in die Elutionsplatte überführt. Die Gesamtzeit für das Aufbereiten von 96 Proben beträgt ca. 4 h (von denen 3 h automatisiert ablaufen).

Ergebnisse

Ausbeute und Reinheit der DNA

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, kann DNA aus verschiedenen Pflanzenproben einfach mit Hilfe des Nucleon Plant DNA Kits und des automatischen ep*Motion* 5075 TMX Systems aufgereinigt werden.

Probe	Ausgangsgewicht der Probe (mg)	n	DNA Reinheit ($A_{260/280}$)	%CV	Mittlere DNA Konzentration (ng/µL)	Mittlere Gesamtausbeute (µg)	%CV
Kohl	30	64	2,18	1,7	109,63	21,93	31,9
Kiefer	30	18	2,00	4,1	26,16	5,23	35,1
Rose	30	18	1,67	2,9	61,84	12,37	13,3
Salat	30	18	2,23	6,4	15,96	3,18	20,7
Mais	30	16	2,14	7,1	22,88	4,58	74,1
Gerste	30	8	2,06	2,9	54,01	10,0	26,3
	Mittlere Reinheit		**2,05**		Mittlere Ausbeute	**11,65**	

Tabelle 1: *Ausbeute und Reinheit der DNA. Variabilität bei der Probenausbeute ist bei der DNA-Aufreinigung aus Pflanzenmaterial nicht überraschend. Dies kann normalerweise auf die Phase der manuellen Probenaufbereitung zurückgeführt werden.*

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

Automatisierte Isolierung pflanzlicher DNA mit Hilfe des Nucleon® Plant DNA Kits auf der ep*Motion*® 5075 TMX

Diese Methode lieferte konstant hochqualitative DNA mit einem mittleren Absorptionsverhältnis von 2,05 (bei 260/280 nm), was auf geringe Kontamination durch Proteine in den DNA-Proben schließen ließ. Die durchschnittliche Gesamtausbeute über alle Proben hinweg betrug 11,65 µg bei einem Ausgangsmaterial von jeweils 30 mg.

Qualität der DNA und strukturelle Integrität

Um die Qualität und die strukturelle Integrität der isolierten DNA darzustellen, wurden die aufgereinigten DNA-Proben mit Hilfe der Agarosegelelektrophorese analysiert (Abb. 1).

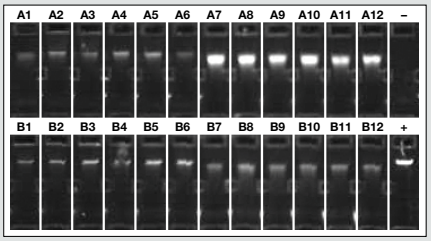


Abb. 1: *Agarosegelelektrophorese aufgereinigter DNA-Proben aus Kohlblättern (A1–A6), Kiefernnadeln (A7–A12), Rosenblättern (B1–B6) und Mais (B7–B12). – = negative Pufferkontrolle, + = Lambda DNA Positivkontrolle*

Die Kohlprobe wurde des Weiteren mit und ohne Behandlung durch Restriktionsenzyme analysiert. Die automatisierte Aufreinigungsmethode erbrachte hochmolekulare DNA, wie anhand der eindeutigen Banden zu erkennen ist (Abb. 2A). Ebenso konnte ein effizienter Verdau durch Restriktionsenzyme erzielt werden; das Gel zeigt die charakteristische DNA-Schmierbande (Abb. 2B).

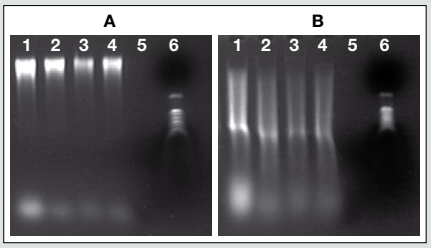


Abb. 2: *Agarosegelelektrophorese aufgereinigter DNA-Proben aus Kohlblättern ohne (A) und nach Restriktionsverdau (B).*

Spuren 1–4: aufgereinigte Kohl-DNA
Spur 5: Negativkontrolle
Spur 6: DNA-Leiter

Probe	Ausgangsgewicht der Probe (mg)	n	DNA Reinheit ($A_{260/280}$)	Mittlere DNA Konzentration (ng/µL)	Mittlere Gesamtausbeute (µg)	%CV
Kohl	30	48	2,19	104,88	20,98	33,0
Leer	0	48	0,91	1,12	0,22	–

Tabelle 2: *Spektrophotometrische Beurteilung von Kreuzkontaminationen*

Kreuzkontamination

Die spektrophotometrische Beurteilung von Kreuzkontaminationen zeigt, dass in den Wells der Negativkontrollen keinerlei DNA aus den 48 Kohlblattpräparationen nachzuweisen war (Tabelle 2).

Diese Beobachtungen wurden außerdem durch Gelanalysen unterstützt (Abb. 3).

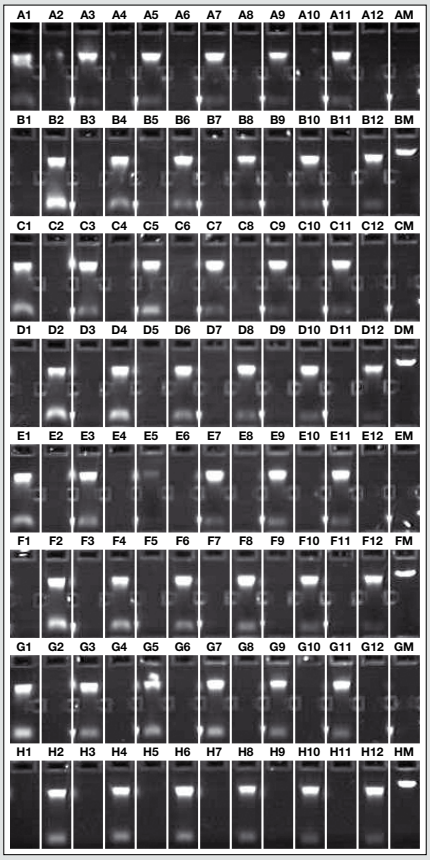


Abb. 3: *Beurteilung von Kreuzkontaminationen mit Hilfe der Agarosegelelektrophorese aufgereinigter DNA-Proben aus Kohlblättern, in abwechselnden Wells aufbereitet.*

Die Wells AM, CM, EM und GM sind die negativen Pufferkontrollen, während BM, DM, FM und HM die positive Lambda DNA Kontrolle darstellen.

In einigen Gelen ist Kontamination mit RNA zu erkennen. Dies könnte durch verlängerte Inkubation mit RNase A und Bead-Mischung oder durch erhöhte Mengen an RNase A verhindert werden.

Fazit

Die Integration des Nucleon Plant DNA Kits in die ep*Motion* 5075 TMX Plattform stellt ein zuverlässiges, bequemes und flexibles System für die automatisierte Aufreinigung hochqualitativer DNA mit hoher Ausbeute aus bis zu 96 Pflanzenproben dar.

Die Gesamtarbeitszeit beträgt 4 Stunden, bei minimaler manueller Bearbeitungszeit. Dieses einfach zu bedienende System bietet neben hohem Durchsatz ebenso die reproduzierbare Aufreinigung hochmolekularer DNA von ausgezeichneter Qualität, welche direkt für sensible Nachfolgeanwendungen eingesetzt werden kann.

Literatur

Application Note 230: Automated Plant DNA Purification using the Nucleon® Plant DNA Kit on the ep*Motion*® 5075 TMX from Eppendorf (www.eppendorf.com/applications)

Nucleon Plant DNA Kit Benutzerhandbuch (www.gen-probe.com/pdf)

Bedienungsanleitung für ep*Motion*® 5075 (www.eppendorf.com – Support & Services/ Literatur Bedienungsanleitungen)

Leserservice
ep*Motion*® 5075 TMX • Kennziffer 228

Application Support:
Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 (0,09 €/min aus dem dt. Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min) · E-Mail: support@eppendorf.com
North America: Tel. +1 800 645 3050 · E-Mail: techserv@eppendorf.com
Asia Pacific: Tel. +60 3 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com

CARSTEN BUHLMANN, EPPENDORF AG

Neues Boxensystem für epT.I.P.S.® Motion

epT.I.P.S. Motion, die Pipettenspitzen für die automatischen Pipettiersysteme ep*Motion*, sind ab sofort in farbkodierten Trays erhältlich. Zusätzlich haben wir das Verpackungssystem optimiert. Mit dem neuen Boxensystem steht Ihnen jetzt eine flexible Lösung zur Verfügung, die sich ganz an Ihre Bedürfnisse anpasst.

Neu und anders

Das neue ep.T.I.P.S. Motion Rack besteht aus zwei Komponenten: einem farbigen Tray, das auf einen Blick das Tip-Volumen anzeigt, sowie einer Box, auf der das Tray gelagert ist.

Neu und ökologisch: das Nachfüllsystem

Mit unseren neuen „Reloads“ (in versiegelter Blisterpackung), die ganz einfach in den neu konzipierten, robusten „TipHolder Adapter“ aus Metall eingesetzt werden, können Sie nachhaltig etwas für die Umwelt tun. Diese günstigere Alternative zu den Einmal-Boxen ermöglicht eine Abfallreduzierung von bis zu 40 %!

Neu und flexibel

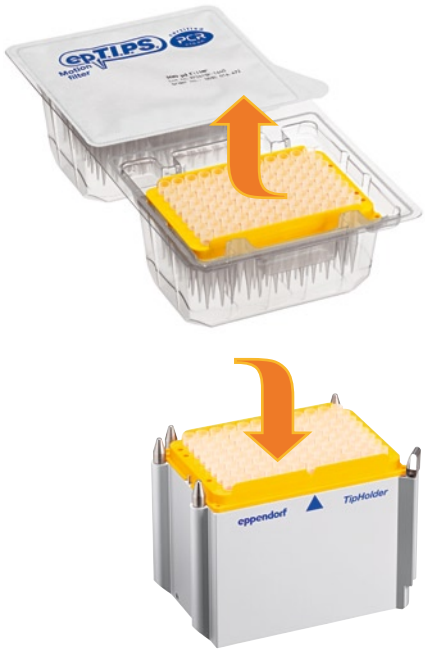
Für welche Variante Sie sich auch entscheiden, beide Systeme sind direkt in Ihrer ep*Motion* einsetzbar. Die vorhandenen Labware Files greifen automatisch! Die Pipettenspitzen sind identisch geblieben und die neuen epT.I.P.S. Motion gibt es wie gehabt mit und ohne Filter und in verschiedenen Reinheitsgraden.

Alle Details zum neuen epT.I.P.S. Motion Boxensystem finden Sie unter

www.epmotion.com

bzw. im Prospekt, den Sie per Kennziffer anfordern können.

epT.I.P.S. Motion Rack: Farbkodiertes Tray in neuer Box



epT.I.P.S. Motion Reload: Nachfüllsystem aus Reload-Tray (oben) und wiederverwendbarem TipHolder Adapter (unten)

epT.I.P.S.® Motion • Kennziffer 180

News

ep*Motion*® Performance Pläne

Unsere ep*Motion* Performance Pläne sind Wartungsprogramme, welche auf die verschiedensten Anforderungen zugeschnitten sind. Die Instrumente werden gereinigt, geprüft, instandgesetzt, kalibriert und gemäß den Spezifikationen justiert.

Zur Unterstützung Ihrer GLP-Dokumentation wird die Kalibrierung der Dosierwerkzeuge nach ISO 8655 mit NIST-verfolgbaren Standards gemessen. Zusätzlich bieten wir einen Zertifizierungsservice für den regulierten Bereich. Dieser beinhaltet die dokumentierte Installations- und Betriebsqualifizierung (IQ/OQ) als auch ein zertifiziertes Training und unseren Applikationssupport. Für diese Dienstleistungen stehen unsere engagierten und gut ausgebildeten Servicetechniker und Applikationsspezialisten zur Verfügung.

epServices
for premium performance

Die Performance Pläne bieten:

- PREMIUM Pläne für zwei Wartungen/Jahr inkl. 1 Jahr Garantieverlängerung
- Kostentransparenz

Ihre Vorteile:

- Ständige Einsatzfähigkeit des Systems
- Konstant hohe Präzision und Richtigkeit
- GLP-konformes, geprüftes System

Mehr Infos unter
www.eppendorf.com/epservices
bzw. auf den lokalen Webseiten*.

*Performance Pläne sind nur in ausgewählten Ländern erhältlich und können variieren.

JANINE JACOBI, EPPENDORF AG

Referenzklasse seit 1994

Es gibt Dinge, die sind einfach zeitlos. Die hatte man immer um sich, ohne groß darüber nachzudenken. Wie z. B. die Eppendorf Reference Pipette, die es seit 1994 gibt, oder die Comforpette, das Vorgängermodell aus den 70er Jahren. Beides sind sogenannte „Einknopf-Pipetten" mit kombiniertem Dosier- und Abwerfknopf.

Eine treue Begleiterin

„Ich kannte gar keine andere Pipette. Bei meiner Tätigkeit im Klinikum Bogenhausen in München habe ich nur mit meiner Comforpette gearbeitet", erzählt Kornelia Ewald. Seit Anfang der 90er Jahre ist Frau Ewald als Applikationsspezialistin bei Eppendorf tätig und hält für das Eppendorf Training Center Endkunden-Seminare zum Thema Liquid Handling ab. Selbstverständlich werden im Rahmen dieser Trainings auch Einknopf-Pipetten behandelt, denn nach wie vor erfreut sich dieser Pipettentyp großer Beliebtheit.

Klassische Konstante

Fortschritte in Wissenschaft, Forschung und unser aller Leben erfolgen in immer kürzeren Intervallen. Hiermit Schritt zu halten, ist gar nicht so einfach. Umso beruhigender sind für den Anwender neben seinen eigenen Erfahrungswerten echte Konstanten, die ihm Gewissheit vermitteln. Dazu gehören Instrumente, auf die er sich stets verlassen kann und die er in- und auswendig kennt – Klassiker wie die Reference Pipette.

Zuverlässig, sicher, ergonomisch

Der anhaltende Erfolg der Reference beruht auf dem einzigartigen Design- und Technologiekonzept. Die Pipette ist so konzipiert, dass sie dank der Kombination aus Dosierung und Spitzenabwurf in einem Knopf die Kontamination durch Aerosole aktiv vermindert. Hinzu kommt ein hohes Maß an Ergonomie: Es gibt nur einen Bedienknopf und eine stets entspannte Handhaltung beim Ablesen des Volumens.

Die Reference erfüllt nicht nur die hohen Kriterien des Eppendorf PhysioCare Concepts, sondern wurde auch vom renommierten TÜV Rheinland für ihre Anwenderfreundlichkeit zertifiziert.

Das positive Feedback unzähliger Anwender bestätigt: Die Eppendorf Reference ist nach wie vor die Referenzklasse für moderne Liquid-Handling-Tools. Mit höchster Präzision und Richtigkeit, geringer Ausfallquote und hoher Langlebigkeit erfreut sie noch heute alte und neue Fans und nimmt nach wie vor einen festen Stammplatz im Eppendorf Pipetten-Portfolio ein.

Die Reference im Internet:
www.eppendorf.de/reference

Eppendorf Reference® • Kennziffer 30

Tipp

Nano ist überall

Nano- und Biotechnologie anschaulich erklärt

Haben Sie sich schon einmal gefragt, wie die Anfänge der Biotechnologie aussahen? Wie man transgene Organismen erzeugt? Und welche technischen Hilfsmittel hierfür benötigt werden? Wie man aus zwei Zellen eine machen kann, um diese dann als „Arbeitspferd" in der Krebsforschung einzusetzen?

Diese und mehr Fragen beantwortet eine beeindruckende Dauerausstellung im „Zentrum Neue Technologien" des Deutschen Museums in München, die im November 2009 eröffnet wurde: „Nano- und Biotechnologie".

Die wissenschaftliche Leiterin der Ausstellung, Frau Dr. Sabine Gerber, legt viel Wert auf eine lebensnahe und leicht verständliche Darstellung, mit der die faszinierenden Möglichkeiten und Entwicklungen der Lebenswissenschaften erläutert werden.

Gleich mehrere Ausstellungsbereiche befassen sich mit dem Nanosystem Zelle und dem gezielten Verändern („Umprogrammieren") von Zellen, um sie zur Behandlung von Krankheiten einzusetzen oder um damit Arzneimittel zu produzieren. Dargestellt werden die Methoden u. a. an Original Eppendorf Zelltechnologie-Produkten, dem Multiporator und einem kompletten Mikromanipulationsarbeitsplatz. Beide haben sich als Standardausrüstung in den naturwissenschaftlichen Laboren etabliert.

Mehr Informationen zur Ausstellung unter www.deutsches-museum.de/ausstellungen/neue-technologien/nano-u-biotechnologie
Mehr Informationen zum Thema Zelltechnologie unter www.eppendorf.com/cell

HEIDE NIESALLA, EPPENDORF AG

BERRIT HOFF, EPPENDORF AG

Lernen mit Eppendorf Produkten

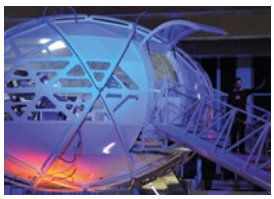
DNA Learning Centers in den USA

Seit mehr als 20 Jahren bereits unterstützt Eppendorf das Dolan DNA Learning Center (DNALC) auf Long Island (NY, USA). Als weltweit erstes Wissenschaftszentrum widmet sich diese Fachabteilung des renommierten „Cold Spring Harbor Laboratory" ausschließlich der Vermittlung von Kenntnissen der Genetik.

Mittlerweile erstreckt sich die Unterstützung durch Eppendorf North America („ENA") auch auf das jüngste, in Harlem, New York, angesiedelte Lernlabor. So hat ENA das „Harlem DNA Lab" mit einer ganzen Palette von Eppendorf Laborprodukten ausgestattet, „darunter fast einhundert Pipetten, vier Mikrozentrifugen, mehrere Cycler und Verbrauchsmaterial wie Pipettenspitzen und Eppendorf Tubes", berichtet Dan Decker, Verkaufsleiter bei ENA und Mitglied im DNALC-Beirat.

Das Harlem DNA Lab ist ein Gemeinschaftsprojekt der New Yorker Bildungsbehörde und dem Dolan DNA Learning Center in Cold Spring Harbor. In dem neu eingerichteten Labor werden nicht nur Schüler aus New York City und Umgebung an genetische Themen herangeführt. Auch für Lehrer finden Weiterbildungsmaßnahmen statt – angefangen bei den Grundlagen der Genetik und Zellbiologie bis hin zu modernen Techniken der DNA-Manipulation und -Typisierung. Seit Gründung der DNA Learning Centers im Jahre 1988 haben mehr als 325.000 Schüler und 8.000 Lehrer an Workshops und Kursen teilgenommen und auf diese Weise Eppendorf Produkte schätzen gelernt.

DNA-Besucherlabor im Deutschen Museum, München



Auch das DNA-Besucherlabor im „Zentrum Neue Technologien" des Deutschen Museums in München hat Eppendorf mit Produkten ausgestattet, u. a. mit Pipetten, Thermomixern und Zentrifugen.

Unter Anleitung von Nachwuchswissenschaftlern darf der Besucher selbst Versuche durchführen und mit Pipetten und anderen Laborgeräten aus der Molekularbiologie umgehen. Dabei kann man nicht nur die alltägliche Arbeit der Forscher im Labor nachvollziehen, sondern erfährt auch Wissenswertes zur Zellbiologie, Vererbung und Gentechnik. Die Teilnehmer können zum Beispiel anhand genetischer Fingerabdrücke ein fiktives Verbrechen aufklären, indem sie DNA-Proben vom Tatort und von den Verdächtigen bearbeiten und miteinander vergleichen.

Das Programm richtet sich an alle Interessierten ab der 9. Klasse und dient auch für Lehrerfortbildungen.

Aus dem Kursprogramm:

- Wer war der Täter?
  (Genetischer Fingerabdruck mittels PCR)
- Gentechnisch verändert?
  (Gen-Analyse mittels realtime-PCR)
- Gentechnisches Arbeiten
  (Gen-Einbau in ein Plasmid)

Genforschung begreifen: Kursteilnehmer im DNA Learning Center Harlem, New York, USA. Mehr Informationen unter www.dnalc.org (Foto: DNALC Harlem)

Kursteilnehmer im DNA-Besucherlabor des Deutschen Museums (Foto: Deutsches Museum). Mehr Informationen unter www.deutsches-museum.de/ausstellungen/neue-technologien und unter www.youtube.com/user/DeutschesMuseum

BERRIT HOFF & CAROLYN POWELL, EPPENDORF AG

Eppendorf ehrt junge Wissenschaftler

Eppendorf Award for Young European Investigators 2011

Zum 16. Mal verlieh die Eppendorf AG am 25. Mai 2011 den *Eppendorf Award for Young European Investigators*. Der mit 15.000 Euro dotierte Preis honoriert herausragende Arbeiten biomedizinischer Forschung auf europäischer Ebene. Erstmalig fand die Preisverleihung am EMBL Advanced Training Centre in Heidelberg statt.

Ausgezeichnet wurde Assistant Professor Suzan Rooijakkers (University Medical Center Utrecht, Dept. Medical Microbiology, Utrecht, Niederlande) für ihre Entdeckungen der Mechanismen, mit denen der Erreger *Staphylococcus aureus* den Angriffen des Immunsystems entgeht, um im menschlichen Körper zu überleben. Sie entdeckte, dass *Staphylococci* Proteine sezernieren, welche wichtige Schritte der Komplementkaskade blockieren. Ein solches Protein ist der einzigartige Komplementinhibitor SCIN; Dr. Rooijakkers wies nach, dass SCIN die C3 Konvertase inhibiert, mit Hilfe derer das Komplementsystem die zu eliminierenden Bakterien markiert. Ihre Ergebnisse erschließen neue Perspektiven für die Entwicklung von Medikamenten gegen entzündliche sowie infektiöse Erkrankungen.

Der *Eppendorf Young Investigator Award* wird in Zusammenarbeit mit *Nature* verliehen.

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/award

Eppendorf & Science Prize for Neurobiology 2010

Der Preis 2010 ging an den kanadischen Forscher Dr. Christopher Gregg, Postdoctoral Fellow an der Harvard University, für seine Forschung auf dem Gebiet der maternalen und paternalen Genexpression im Gehirn. Sein Schwerpunkt ist die Untersuchung von Genen, deren Expression sich in den Gehirnen der Nachkommen verändert, und zwar abhängig davon, ob sie vom Vater oder von der Mutter vererbt werden. Ein Verständnis der parentalen Effekte bei der Genexpression ist möglicherweise wichtig für das Aufdecken der Grundlagen komplexer neurologischer Erkrankungen wie z. B. Autismus, Schizophrenie oder Essstörungen.

Der *Eppendorf & Science Prize for Neurobiology* ist ein jährlich auf internationaler Ebene ausgelobter, mit 25.000 US-Dollar dotierter Forschungspreis. Er zeichnet junge Wissenschaftler für herausragende Beiträge in der neurobiologischen Forschung aus. Dr. Gregg ist der neunte Gewinner des Preises. Die Verleihung fand am 15. November 2010 in San Diego, USA, statt.

Mehr Informationen unter www.eppendorf.com/prize

Tipp

Applikationen gesucht

Haben Sie eine innovative Applikation, bei der Eppendorf-Produkte zum Einsatz kommen? Dann sprechen Sie uns an! Wenn Ihre Applikation geeignet ist, setzen wir uns für eine Veröffentlichung ein, entweder online auf unserer Homepage, in der Eppendorf BioNews oder in einem wissenschaftllichen Journal.

Im Fall einer Veröffentlichung erhalten Sie 100 ep-points und gratis Eppendorf Produkte Ihrer Wahl im Wert von max. 500 Euro. Unsere Autorenrichtlinien zu Inhalt und Formaten finden Sie auf www.eppendorf.com/applications

Weitere Fragen beantwortet Ihnen gerne unser Application-Support. Sie erreichen den Eppendorf Application Support per E-Mail unter support@eppendorf.com oder telefonisch unter +49-1803-666789 (0,09 €/min aus dem deutschen Festnetz, Mobilfunk max. 0,42 €/min).

AXEL JAHNS, EPPENDORF AG

Mit Kompetenz zum Erfolg

Ein anhaltendes Umsatzwachstum, ein erhöhter Geschäftsanteil in Asien und ein operatives Ergebnis plus 20,1 % kennzeichnen die fortgesetzt positive Geschäftsentwicklung Eppendorfs im Geschäftsjahr 2010.

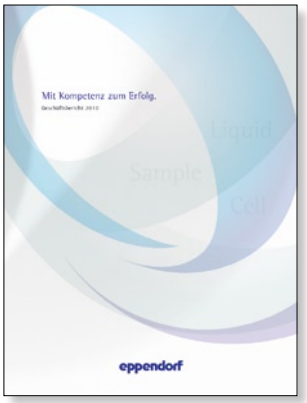
„Nach den Erschütterungen der Krise 2009 stand die Wirtschaft im Jahr 2010 noch nicht wieder auf sicheren Beinen. Eppendorf kann trotzdem ein erfolgreiches Jahr vorweisen, zu dem ein starkes Wachstum in Asien sowie die sich erholenden Wirtschaften in Europa und in den USA beigetragen haben“, kommentiert Klaus Fink, Vorstandsvorsitzender der Eppendorf AG, der zum 1. Mai 2011 den Vorsitz des Vorstands mit dem des Aufsichtsrats tauschte. Zum gleichen Zeitpunkt trat Dr. Dirk Ehlers seine Nachfolge als Vorstandsvorsitzender an.

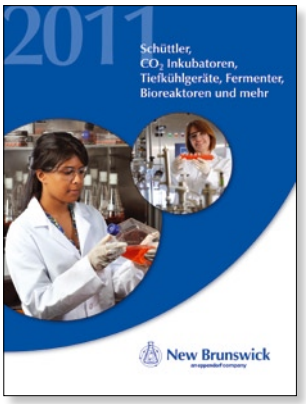
Eppendorfs Erfolg hat viele gute Gründe

Der herausragende Status im Life Science Bereich, die Kunden, die Qualität der Produkte und die Kompetenz der Mitarbeiter: Diese vier Grundpfeiler des wirtschaftlichen Erfolges Eppendorfs werden im frisch erschienenen Geschäftsbericht 2010 näher beleuchtet. Jetzt auf Seite 15 per Antwortfax bestellen. (Den Geschäftsbericht finden Sie auch auf unserer Homepage.)

New Brunswick Katalog 2011

New Brunswick gehört seit 2007 zur Eppendorf Gruppe und bereichert das Portfolio um eine breite Palette an innovativen Geräten für das Wachstum von Bakterienkulturen, Detektion und Aufbewahrung. Bekannt für den zuverlässigen Betrieb, werden die Schüttler, CO_2-Inkubatoren, Tiefkühlgeräte, Fermenter und Bioreaktoren von New Brunswick in einer Vielzahl von Anwendungen in Forschung und Industrie eingesetzt. Der New Brunswick Katalog 2011 steckt voll innovativer Technik für praktisch jede Produktlinie! Jetzt anfordern mit dem Antwortfax auf Seite 15!





News

Installations- und Betriebsqualifizierung

Mit unseren Installations-(IQ)- und Betriebsqualifizierungs-(OQ)-Services versichern wir Ihnen, dass Ihr Eppendorf Instrument nach Herstellerspezifikationen ausgeliefert und funktionsfähig installiert wird. Mit der Installationsqualifizierung wird dokumentiert, dass alle Bestandteile wie spezifiziert geliefert und installiert wurden. Der sichere und optimale Betriebszustand Ihres Eppendorf Gerätes wird durch die Betriebsqualifizierung mit herstellerspezifischen Testabläufen, Arbeits- und Messmitteln für prozesskritische Messwerte sichergestellt. Eppendorf erstellt die notwendigen zertifizierungskonformen Dokumente mit allen relevanten Daten, die Sie bei der Erstellung Ihrer Qualitäts- und gesetzlichen Dokumentation für behördliche und andere interne Laboranforderungen (FDA, ISO, GxP, SOP, etc.) unterstützen. So sind Sie optimal für Ihre Audits vorbereitet.

Ihre Vorteile:

- Sicherheits- und Qualitätskonformität bei Ihrer Arbeit
- Compliance-Nachweis mit den relevanten technischen Spezifikationen
- Unterstützung für Ihre regulatorischen Aufgaben und GxP Anforderungen

epServices
for premium performance

Für weitere Auskünfte sprechen Sie bitte Ihre Eppendorf Niederlassung an. Ausführliche Informationen finden Sie auch im Supportbereich Ihrer lokalen Eppendorf Homepage sowie unter www.eppendorf.com/epservices

Gewinnspiel

Online teilnehmen unter www.eppendorf.de/bn-service

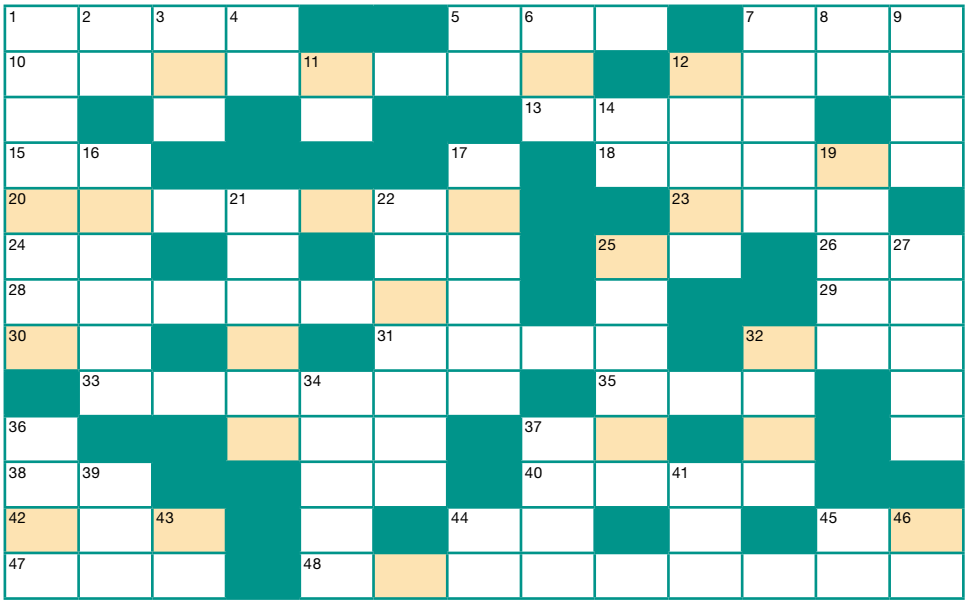
Die Lösung des Preisrätsels aus BioNews Nr. 33 lautete „Eppendorf LoBind“. Frau Claudia Bräunig (fzmb GmbH, Bad Langensalza) gewann den ersten Preis, eine Eppendorf Xplorer Pipette.

Viel Spaß bei unserem neuen Rätsel!

Bringen Sie die eingekreisten Buchstaben in die korrekte Reihenfolge und schicken Sie uns die richtige Lösung bis zum **31. Oktober 2011** zurück.

Sie können hierfür das Antwortfax (Seite 15) verwenden, uns eine E-Mail an bionews@eppendorf.de senden oder unser Online-Formular unter www.eppendorf.de/bn-service nutzen!

Unter allen richtigen Einsendungen verlosen wir wieder attraktive Preise. Die Gewinner werden schriftlich benachrichtigt. Eine Barauszahlung ist nicht möglich. Der Rechtsweg ist ausgeschlossen. Eppendorf-Mitarbeiter und deren Angehörige dürfen nicht teilnehmen. Der Gewinner des ersten Preises wird in Ausgabe 37 veröffentlicht.



1. Preis:

1 epReference³ Pack

mit 3 Eppendorf Reference Pipetten (0,5–10 µL, 10–100 µL, 100–1.000 µL), passenden epT.I.P.S., 3 Wandhaltern und einem Pipetten-Kugelschreiber

2. bis 5. Preis:

je 1 MP3-Player

6. bis 15. Preis:

je 200 Bonus ep-points

WAAGERECHT

1 Nicht kalt
5 Hier gibt’s Keeper und Cocktails
7 Aktuell häufig in Kombination mit Flash auftretend
10 Ursprünglich, unverfälscht
12 Verleiht Gamie, Poly, Tonie erst Sinn
13 Das wäre im engl. Plural „those“
15 1000 m abgekürzt
18 Zeigt an der Wand die engl. Zeit an
20 Wenn der gut ist, sind Sie entspannt
23 Das fehlt John Volta
24 Ob Heidelberg oder High Definition, kurz muss es sein
25 In diesem US-Staat liegt Philadelphia (Abk.)
26 Staat an der Westküste der USA (Abk.)
28 Stadt in 26 waagerecht
29 Hochdurchsatz in Kürze
30 ISO-Länderkürzel von Pakistan
31 Synonym für Abschluss, Geschäft (engl.)
32 So heißt das Salz z. B. in der Bretagne
33 Zukunft der Franzosen
35 „Kicher, prust, kreisch“ ... im Internet
37 Hiermit gekennzeichnete Produkte entsprechen den EU-Richtlinien
38 Chem. Zeichen für Aluminium
40 Kleinster Baustein der Materie
42 Kap in Massachussetts, USA
44 Internet Protocol (Abk.)
45 Postskriptum
47 Lateinisches Ich
48 Beliebte Einknopf-Pipette

SENKRECHT

1 Arbeitstreffen, Kurs oder Lehrgang
2 Chem. Zeichen für Argon
3 Spanisches Wort für Fluss
4 Chem. Zeichen für Magnesium
5 Barium abgekürzt
6 Spezielle Computertaste
7 Triebwerk, Maschine
8 Ontario (Abk.)
9 So etwas gibt es „on demand“
11 Abk. für Illinois
12 Inselstaat im Mittelmeer
14 Honoris causa in Kürze
16 Japanischer Reisfisch
17 Liest Barcodes ein und wird von englischen Autoren geschätzt
19 Zur Datenspeicherung eingesetzt
21 Englisches Tal
22 Hefegattung
25 Sichtbares Resultat der Zentrifugation
27 Landkartensammlung
32 Schlank, dünn (engl.)
34 Liegt dem Zenit gegenüber
36 Gesicht, Antlitz, Fassade (engl.)
37 Umhang, Poncho
39 Kurz für Logarithmus
41 Feierliches Gedicht
43 Eine Liste, die mit „To“ beginnt und hiermit endet, macht Arbeit
44 Wenn ob oder falls erfragt ist, antworten Sie auf Englisch so
45 Personal Computer (Abk.)
46 ISO-Länderkürzel von Schweden

Warenzeichenhinweise

CellTram · epGreen (Logo) · epMotion · Eppendorf · Eppendorf BioPhotometer · Eppendorf LoBind · Eppendorf Reference · Eppendorf Tubes · Eppendorf twin.tec · Eppendorf Xplorer · ep-points · epT.I.P.S. · Masterclear · Mastercycler · Multiporator · PhysioCare Concept sind eingetragene Marken der Eppendorf AG. epGreen · Eppendorf Safe-Lock · epServices · epServices (Logo) · FastTemp · Kit-Rotor · New Brunswick (Logo) · New Brunswick Logo with Flask Design · PatchMan sind Marken der Eppendorf AG. OptiBowl · Silence|Speed|Simplicity sind eingetragene Marken der Eppendorf North America Inc., USA.

LOOXSTER und VYOO sind eingetragene Marken der SIRS-Lab GmbH. QIAGEN ist eine eingetragene Marke der QIAGEN Group. Nucleon ist eine eingetragene Marke der Gen-Probe Life Sciences Ltd. Magnabot ist eine eingetragene Marke der Promega Corp. Irrtum vorbehalten. Stand Juli 2011.

An Eppendorf AG, Hamburg, z. Hd. Anton Janott, Fax 040 - 5 38 01-8 40

(Bitte deutlich schreiben, keine Privatadressen)

Firma / Universität / Klinik	Titel / Vorname / Name	
Institut	Straße	
Abteilung / Funktion	PLZ / Ort	
E-Mail	Telefon	Telefax

NEU! Jetzt online BioNews gratis abonnieren oder Literatur anfordern unter www.eppendorf.de/bn-service

Bitte senden Sie mir Informationen zu den Kennziffern:		
○	8	Eppendorf Safe-Lock™ Reaktionsgefäße
○	30	Eppendorf Reference®
○	52	PatchMan™
○	77	CellTram®
○	180	epT.I.P.S.® Motion
○	221	Eppendorf BioPhotometer® plus
○	223	real-time PCR Consumables
○	224	Mastercycler® pro
○	228	ep*Motion*® 5075 TMX
○	235	Centrifuge 5424 R
○	Eppendorf Gesamtkatalog 2011	
○	Eppendorf Geschäftsbericht 2010	
○	New Brunswick Gesamtkatalog 2011	

Helfen Sie uns bitte, Ihre Abonnement-Daten zu pflegen:	
○	Ich bin bereits Eppendorf BioNews Abonnent.
○	Bitte aktualisieren Sie meine Adresse (s. o.).
○	Ich bin neuer Abonnent. Bitte schicken Sie mir regelmäßig gratis die Eppendorf BioNews (2 Ausgaben pro Jahr).
○	Ich habe Interesse am E-Mail-Newsletter von Eppendorf. (Oben im Adressblock bitte E-Mail-Adresse angeben).

Ich habe Kommentare zur BioNews Nr. 35:

Ich habe Anregungen für die nächste BioNews:

Lösung BioNews Gewinnspiel aus BioNews Nr. 35:

| | | |

ABN 3513010

AAAS is here – protecting the integrity of the science classroom.

AAAS is working hard to keep evolution in the classroom by publishing op-eds, educating school boards, consulting with state and local governments, and by providing support for other pro-evolution organisations. As a AAAS member your dues support these efforts. If you're not yet a AAAS member, join us. Together we can make a difference.

To learn more, visit aaas.org/plusyou/evolution

AAAS + U = Δ